

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平5-38294

(43)公開日 平成5年(1993)2月19日

| (51)Int.Cl. <sup>5</sup> | 識別記号 | 庁内整理番号  | F I | 技術表示箇所 |
|--------------------------|------|---------|-----|--------|
| C 1 2 P 17/18            | B    | 2104-4B |     |        |
| // C 0 7 B 59/00         |      | 7419-4H |     |        |
| (C 1 2 P 17/18           |      |         |     |        |
| C 1 2 R 1:06)            |      |         |     |        |

審査請求 未請求 請求項の数 1 (全 9 頁)

(21)出願番号 特願平3-198002

(22)出願日 平成3年(1991)8月7日

(71)出願人 000004444

日本石油株式会社  
東京都港区西新橋1丁目3番12号

(72)発明者 梶原 正宏

埼玉県新座市馬場2-12-9

(72)発明者 小島 一郎

神奈川県横須賀市湘南鷹取4-2-22

(74)代理人 弁理士 青木 朗 (外4名)

(54)【発明の名称】 標識されたポルフィリン化合物の製造方法

(57)【要約】

【構成】 特定の位置の炭素原子として<sup>13</sup>Cを有する5-アミノレブリン酸を含有する培地で、ポルフィリン類を生産する能力を有するアースロバクター属微生物を培養し、培養物から目的とするポルフィリン化合物を採取することを特徴とする、特定の部位が<sup>13</sup>Cにより標識されたウロポルフィリンI、ウロポルフィリンIII、コプロポルフィリンIもしくはコプロポルフィリンIII、又はこれらの低級アルキルエステルの製造方法。

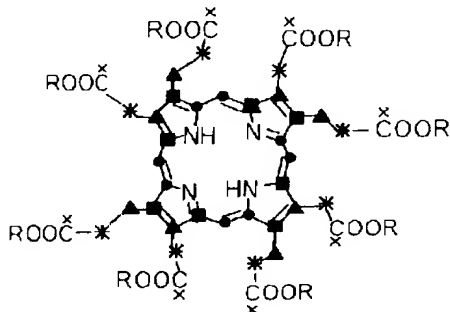
【効果】 特定の部位が特異的に<sup>13</sup>Cにより標識されたポルフィリン類が得られる。

1

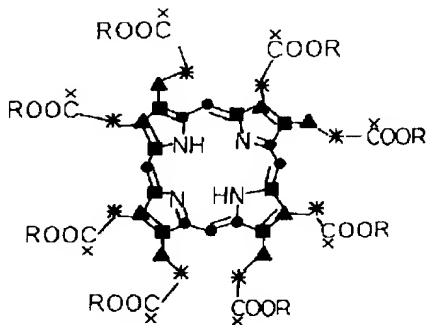
## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 次の式 (I) , (II) , (III) 又は (IV) :

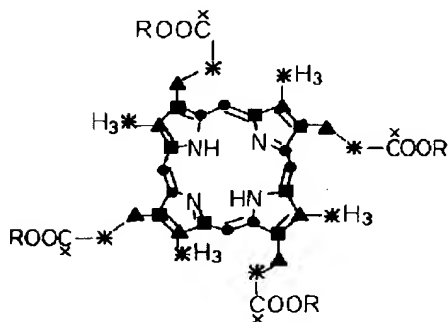
## 【化1】



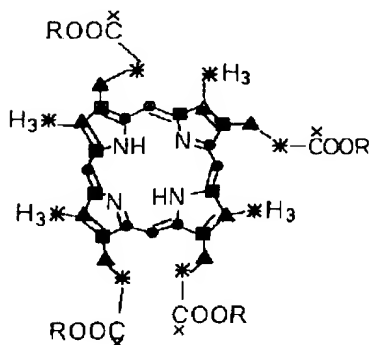
## 【化2】



## 【化3】



## 【化4】

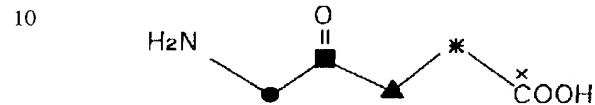


〔式中、記号x, \*, ▲, ■, 及び●はそれぞれ炭素原子<sup>13</sup>C又は天然に存在する炭素原子を表わし、これらの

2

記号のいずれか1つにより表わされる炭素原子が<sup>13</sup>Cである場合に他の記号により表わされる炭素原子は天然に存在する炭素原子であり、そしてRは水素もしくは低級アルキル基又は塩形成性陽イオンを表わす〕により表わされるポルフィリン化合物を含むポルフィリン化合物の製造方法であって、アースロバクター (*Arthrobacter*) 属に属しポルフィリン化合物を生産する能力を有する微生物を、次の式 (V) :

## 【化5】



〔式中、記号x, \*, ▲, ■及び●は炭素原子<sup>13</sup>C又は天然に存在する炭素原子を表わし、これらの記号のいずれか1つにより表わされる炭素原子が<sup>13</sup>Cである場合に他の記号により表わされる炭素原子は天然に存在する炭素原子であり、そして前記式 (I) , (II) , (III) 又は (IV) における記号の内<sup>13</sup>Cを表わす記号と同一の記号により表わされる式 (V) 中の炭素は<sup>13</sup>Cである〕により表わされる5-アミノレブリン酸を含有する培地において培養し、その培養物から目的とするポルフィリン化合物を採取するか、又はそれを低級アルキルエステルとして分離することの特徴とする方法。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【産業上の利用分野】 本発明は、所定の部位に炭素原子<sup>13</sup>Cが導入されたポルフィリン類の製造方法に関する。

<sup>13</sup>Cによりラベルされたポルフィリン類は生体内におけるポルフィリン及びポルフィリノーゲンの代謝の研究並びにポルフィリン症、鉛中毒、肝機能障害等の診断のために有用であり、特定の部位のみが<sup>13</sup>Cによりラベルされたポルフィリン類は特に、ポルフィリン類の代謝経路を研究するために有用である。

## 【0002】

【従来の技術】 ポルフィリン類を生産する微生物としてロドシュードモナス (*Phodopseudomonas*) 属微生物及びプロピオニバクテリウム (*Propionibacterium*) 属微生物 [U. Ya. Bykhouskii 他、Biokhim. Mikrobiol., 23(6), 725-736, 1987] が知られている。また、特公昭62-21520、及び特公昭63-19156にはアースロバクター属微生物を用いるウロポルフィリンIII及びコプロポルフィリンIIIの製造方法が知られている。

【0003】 しかしながら、ポルフィリン類の各炭素がその製造のための原料又は前駆体のどの炭素原子に由来するか明らかでなく、従って特定の部位が<sup>13</sup>Cにより標識されたポルフィリン化合物の製造方法は知られていなかった。

## 【0004】

【発明が解決しようとする課題】 従って本発明は、特定

の部位が $^{13}\text{C}$ により標識されたポルフィリン類の新規な製造方法を提供するものである。

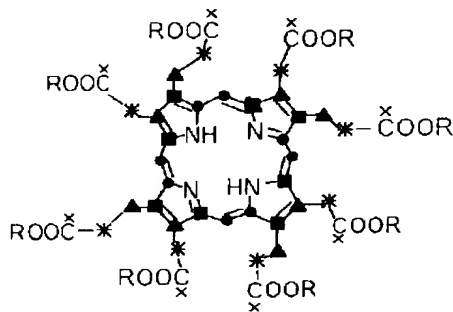
【0005】

【課題を解決するための手段】本発明者らは、上記の課題を解決するため種々検討した結果、アースロバクター属微生物によりポルフィリン類を発酵生産するに際してポルフィリン類の前駆体として5-アミノレブリン酸を培地に添加した場合、該5-アミノレブリン酸分子の特定の部位の炭素原子がポルフィリン分子の特定の部位に導入されること、すなわち特定の炭素原子のみが $^{13}\text{C}$ により標識された5-アミノレブリン酸を用いることにより、特定の部位のみが $^{13}\text{C}$ により標識されたポルフィリンが合成されることを見出し、この知見に基いて本発明を完成した。

【0006】従って本発明は、次の式 (I), (II), (III) 又は (IV) :

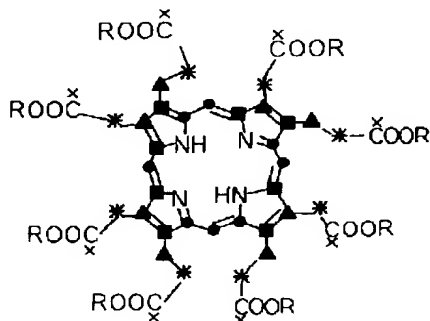
【0007】

【化6】



【0008】

【化7】



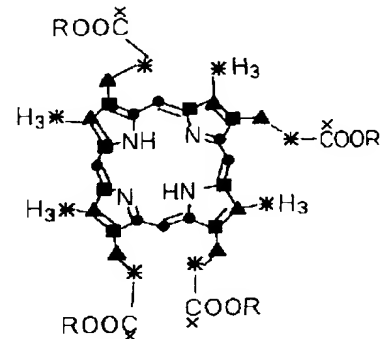
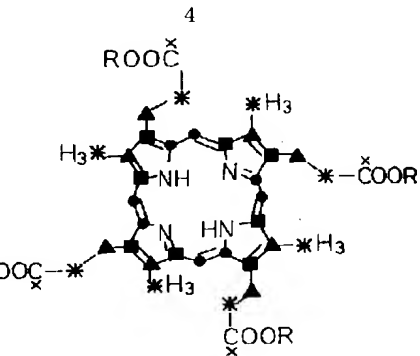
【0009】

【化8】

10

\* 【0010】

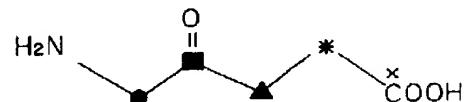
【化9】



【0011】〔式中、記号 $\times$ ,  $*$ ,  $\blacktriangle$ ,  $\blacksquare$ , 及び $\bullet$ はそれぞれ炭素原子 $^{13}\text{C}$ 又は天然に存在する炭素原子を表わし、これらの記号のいずれか1つにより表わされる炭素原子が $^{13}\text{C}$ である場合に他の記号により表わされる炭素原子は天然に存在する炭素原子であり、そしてRは水素もしくは低級アルキル基又は塩形成性陽イオンを表わす〕により表わされるポルフィリン化合物を含むポルフィリン化合物の製造方法であって、アースロバクター (*Arthrobacter*) 属に属しポルフィリン化合物を生産する能力を有する微生物を、次の式 (V) :

【0012】

【化10】



【0013】〔式中、記号 $\times$ ,  $*$ ,  $\blacktriangle$ ,  $\blacksquare$ 及び $\bullet$ は炭素原子 $^{13}\text{C}$ 又は天然に存在する炭素原子を表わし、これらの記号のいずれか1つにより表わされる炭素原子が $^{13}\text{C}$ である場合に他の記号により表わされる炭素原子は天然に存在する炭素原子であり、そして前記式 (I), (II), (III) 又は (IV) における記号の内 $^{13}\text{C}$ を表わす記号と同一の記号により表わされる式 (V) 中の炭素は $^{13}\text{C}$ である〕により表わされる5-アミノレブリン酸を含有する培地において培養し、その培養物から目的とするポルフィリン化合物を採取するか、又はそれを低級アルキルエステルとして分離することを特徴とする方法を提供す



るものである。

#### 【0014】

【具体的な説明】本発明によれば、前記式(V)で示される5-アミノレブリン酸の記号 $\times$ 、 $*$ 、 $\Delta$ 、 $\square$ 又は $\bigcirc$ で表わされる炭素原子のいずれかとして $^{13}\text{C}$ を有する該5-アミノレブリン酸を含む培地中で後に記載するポルフィリン生産性微生物を培養すると、レブリン酸を表わす式(V)中の前記の記号の内 $^{13}\text{C}$ を表わす記号と同じ記号により表わされる式(I)、(II)、(III)又は(IV)中の部位に $^{13}\text{C}$ を有するポルフィリン類が生産される。従って、特定の部位のみが $^{13}\text{C}$ により標識された5-アミノレブリン酸を用いることにより対応する特定の部位が $^{13}\text{C}$ により標識されたポルフィリン類を得ることができる。

【0015】前記式において、式(I)はウロポルフィリンI又はそのエステルを表わし、式(II)はウロポルフィリンIII又はそのエステルを表わし、式(III)はコプロポルフィリンI又はそのエステルを表わし、そして式(IV)はコプロポルフィリンIII又はそのエステルを表わす。アースロバクター属微生物はポルフィリン類を遊離化合物又はその塩の形で生産するから、Rが低級アルキル基であるポルフィリン類のエステルを製造する場合、遊離化合物の微生物的生産の後のいずれかの段階により常法に従ってエステル化する。エステル形成アルキル基としては、例えばメチル基、エチル基、n-プロピル基、イソプロピル基、n-ブチル基、イソブチル基、直鎖又は分枝鎖のペンチル基等が挙げられる。また、塩形成性陽イオンRとしてはナトリウムイオン、カリウムイオン、アンモニウムイオン等が挙げられる。

【0016】本発明において使用する微生物はアースロバクターに属し、且つウロポルフィリンを生産する能力を有するものであればなんでもよく、その種(species)は限定されない。また、天然から単離した株、すでに保有されている株、これらの株に基いて得られた突然変異株等いずれも使用することができる。本発明において使用できるポルフィリン類生産株の具体例として、アースロバクター・ヒアリナス(*Arthrobacter hyalinus*)、アースロバクター・グロミホルミス(*Arthrobacter globiformis*)及びアースロバクター・パセンス(*Arthrobacter pascens*)、並びにこれらの変異株を挙げることができる。

【0017】該アースロバクター・ヒアリナスは、工業技術院微生物工業技術研究所(FRI)に微工研菌寄第3125号として、又、アメリカン・タイプ・カルチャー・コレクションATCC31263として寄託された公知自由分譲菌株である。その菌学的性質の詳細は例えば、特公昭52-94498号に記載されている。又、該アースロバクター・ヒアリナスの変異株5メチルーD-レートリプトファン抵抗株は、工業技術院微生物工業技術研究所(FRI)に寄託されている(微工研菌寄受理



第5256号)。又、アースロバクター・ヒアリナスの変異株コプロポルフィリンIII抵抗株は工業技術院微生物工業技術研究所(FRI)に寄託されている(微工研菌寄第5259号)。

【0018】該アースロバクター・グロミホルミスは、(財)発酵研究所にIFO12137号として、又、アメリカン・タイプ・カルチャー・コレクションにATCC8010号として寄託された自由分譲可能な公知菌株であって、その菌学的性質は例えば、Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 8版に記載されている。

【0019】更に、上記アースロバクター・パセンスは、(財)発酵研究所にIFO12139号として、又、アメリカン・タイプ・カルチャー・コレクションにATCC13346号として寄託された自由分譲可能な公知菌株であって、その菌学的性質の詳細は例えば、Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 8版に記載されている。又、該アースロバクター・パセンスの変異株レートリプトファン抵抗株は、FRI, Japanに寄託されている(微工研菌寄第5257号)。

【0020】上記変異もしくは変種株は、親株から例えば紫外線照射、コバルト60放射線照射の如き公知の手段で得ることができる。例えば、照射処理株を、ポルフィリン類生産阻害剤含有ミネラル寒天培地に培養し、必要に応じ、照射処理及び培養をくり返して、ポルフィリン類生産能の増大した菌株を採取することにより得ることができる。培養は親菌株に公知の培養条件で行うことができる。得られる変異もしくは変種株の菌学的性質は親菌株のそれと実質的に同じであり、ウロポルフィリンIII生産能が親菌株より向上している点異なる。

【0021】本発明によれば、上述の如きアースロバクター属に属するポルフィリン生産菌を培地に培養して、得られた培養物からポルフィリンを直接もしくは間接的に、例えばエステル中間体を介して、採取することによりポルフィリン類を製造することができる。更に又、L-シスチン含有培地もしくはMg<sup>2+</sup>含有培地の利用により、さらにポルフィリン類生産量を更に向上させることができる。

【0022】本発明方法の実施に際して、上記培地としては、炭素源、窒素源、無機塩類などを含有する培地が使用できる。該培地はまた、L-シスチン、Mg<sup>2+</sup>、消泡剤その他の成分を含有することができる。斯かる炭素源の例としては、たとえば、糖質、アルコール類、炭化水素類、ふすまなどの如き炭素源をあげることができる。また、窒素源としては、たとえば、コーンスチープ・リカー、酵母エキス、肉エキス、ペプトン、フィッシュミール、アンモニウム塩類、硝酸塩類、尿素など窒素源をあげることができ、更に、無機塩類としては、例えば、燐酸塩類、マグネシウム塩類、亜鉛塩類、カルシウム塩類、マンガン塩類、モリブデン塩類、銅塩類などを

挙げることができる。

【0023】培地組成は適宜に変更でき、また培養中に適宜に追加添加することもできる。例えば、炭素源としてのアルコール類を利用するに際して、アルコールの残存濃度が少なくなったとき、あるいはポルフィリン類の生産開始の時期またはその前後でアルコールを追加することによってポルフィリン類の生産を増加できる。培養に際しては、培地中に鉄塩類が実質的に存在しないこと \*

表1

スラント培地及び生産培地の組成 (200mL当り)

| 成 分   | スラント培地 | 生産培地   |
|---|--------|--------|
| NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>                       | 0.6 g  | 0.6 g  |
| Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> · 12H <sub>2</sub> O | 0.3 g  | 0.3 g  |
| KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>                       | 0.08 g | 0.08 g |
| MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O                 | 0.1 g  | 1.0 g  |
| FeSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O                 | 2.0 mg |        |
| ZnSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O                 | 2.0 mg | 2.0 mg |
| CaCl <sub>2</sub> · 6H <sub>2</sub> O                 | 2.0 mg |        |
| CuSO <sub>4</sub> · 5H <sub>2</sub> O                 | 10 μg  | 10 μg  |
| MoO <sub>3</sub>                                      | 2 μg   | 2 μg   |
| 酵母エキス   | 0.2 g  | 0.2 g  |
| ペプトン  |        | 0.6 g  |
| L-シスチン  |        | 0.12 g |
| CaCO <sub>3</sub>                                     |        | 1.0 g  |
| 寒天  | 3 g    |        |

【0026】本発明の方法においては、特定の部位が<sup>13</sup>Cにより標識された5-アミノレブリン酸を含有する培地中でポルフィリン生産菌を培養することを特徴とするが、この場合、<sup>13</sup>Cにより標識された5-アミノレブリン酸はそれ自体として使用することもでき、またラベルされていない5-アミノレブリン酸との混合物として使用することもできる。いずれの場合も、5-アミノレブリン酸という場合、遊離の5-アミノレブリン酸のみならず、その塩のごとき誘導体をも意味する。

【0027】5-アミノレブリン酸の添加量は、使用する菌株、培養条件、培地組成等により異なるが、一般に0.01g/L~3g/Lの範囲であり、好ましくは0.03g/L~0.6g/Lの範囲であり、さらに好ましくは0.05g/L~0.2g/Lの範囲であり、そして例えば0.1g/Lである。5-アミノレブリン酸の添加量は、種々の条件においてその条件に最も適するように実験的に容易に決定することができる。

【0028】5-アミノレブリン酸は、生産培養の最初から培地に添加しておくことが好ましいが、培養開始後の適当な時期、例えば生産菌がある程度増殖した時点で添加することもできる。また5-アミノレブリン酸は、培地に一時に加えることもでき、あるいは培養中に連続 ※50

\* が好ましい。

【0024】本発明においては、ポルフィリン生産菌の日常の保存にはスラント培地が適し、そして生産培養のためには液体培地が好ましい。これらの好ましい、グルコースやイソプロパノール等の炭素源を除く培地組成の例を表1に示す。

【0025】

※的又は間欠的に添加することもできる。本発明においては、式(V)により示される記号のいずれかの部位が<sup>13</sup>Cにより標識された5-アミノレブリン酸を用いるが、これらの1, 2, 3, 4又は5位が<sup>13</sup>Cで標識された5-アミノレブリン酸は例えば、<sup>13</sup>Cで標識されたブロム酢酸、メルドラム酸、またはグリシンから製造(または入手)することができる。すなわち[1-<sup>13</sup>C] 5-アミノレブリン酸と[2-<sup>13</sup>C] 5-アミノレブリン酸は<sup>13</sup>C-ブロム酢酸から、[3-<sup>13</sup>C] 5-アミノレブリン酸は<sup>13</sup>C-メルドラム酸から、[4-<sup>13</sup>C] 5-アミノレブリン酸と[5-<sup>13</sup>C] 5-アミノレブリン酸は<sup>13</sup>C-グリシンから製造(または入手)されることができ 40

〔引用文献; Katsuyuki Kurumaya, Takao Okazaki, Nobuo Seido, Yuzuru Akasaka, Yoshiki Kawajiri, and Masahiro Kajiwara, Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals, XXVII, No. 2, 217-235 (1989)〕

【0029】本発明の方法において、培養は振盪もしくは通気攪拌などの好気条件下に行われるが、比較的低通気条件を採用するのがよい。培養温度としては一般に約20℃~約40℃程度の温度が利用され、pH約4~約9.5程度のpH条件が採用できる。培養時間は、通

常、約2〜20日程度がよく、他の培養条件の選択に応じて適当に変更可能である。

【0030】本発明方法の実施に際しては、培地中にレーシスチン及び／又はMg<sup>++</sup>を含有させることによって、ポルフィリン類生産量を一層増大せしめることができる。上記Mg<sup>++</sup>を与える化合物としては、各種の水可溶性マグネシウム化合物を利用でき、例えば、硫酸マグネシウム、塩化マグネシウム、硝酸マグネシウム、酢酸マグネシウムの如きマグネシウム化合物を例示できる。レーシスチン及び／又はMg<sup>++</sup>の量は適宜に選択できるが、例えば、1Lの培地に0.1gから5gの如きレーシスチンの使用量、例えば、0.1gから10gの如きMg<sup>++</sup>の使用量を例示することができる。

【0031】得られた培養物、たとえば培養液中にポルフィリン類が蓄積する。培養物から生成したポルフィリンの採取は、種々の手段で行うことができる。例えば、酢酸酸性酢酸エチルその他適当な有機溶媒を用いて、好収率でポルフィリン類を培養物から抽出採取することができる。抽出に際しては、菌体その他の固形分を分離除去した培養液から抽出するのが普通である。又、例えば、菌体その他の固形分と分離された培養液のpHを、1.6〜3.6程度に調節してポルフィリン類を等電点沈殿させ、適宜な固液分離手段たとえば濾過、遠心分離などの手段でポルフィリン類濃縮物を得ることができる。

【0032】上記例示の如くして得られる濃縮物や抽出液を、例えば、硫酸メタノールを用いて含有されるポルフィリン類をメチルエステル化し、必要に応じ、アルミナを用いてカラムクロマト方式により精製して、メチルエステルの形でポルフィリン類を採取することができる。或は又、該濃縮物や抽出液を、液体クロマト処理たとえばスチレンージビニルベンゼン系ゲルのカラムを用いる高速液体クロマトグラフィーにより処理して、ポルフィリン類を採取することができる。又、上記ポルフィリン類のエステルの形で採取した場合には、所望により、加水分解処理して塩類に変えることができる。例えば、ウロポルフィリンIIIのエステルを、例えば、トルエン、ピリジン、ジクロロエタン、トリクロロエタン、テトラヒドロフラン、ジメチルスルホキシドなどの有機溶媒に溶解し、少量のアルカリを加えて加熱するとウロポルフィリンIIIのアルカリ塩が析出してくるので、この析出物を例えば濾別して塩の形で回収することができる。更に又、鉍酸類を用いてエステルを加水分解したのち、適当なアルカリで中和して、析出するウロポルフィリンIIIのアルカリ塩を回収することもできる。

【0033】本発明において使用する、具体的に例示した生産菌株はコプロポルフィリンIII及びウロポルフィリンIIIを高い比率で生産するが、他のポルフィリン類すなわちウロポルフィリンI及びコプロポルフィリンIも生産する。従って、発酵生産の後精製の過程で目的と

するポルフィリン化合物を得ることができる。

#### 【0034】

【実施例】次に、実施例により本発明をさらに具体的に説明する。

#### 実施例1

イソプロパノールを1滴加えたスラント上に培養したアースロバクター・ヒアリナス（微工研菌寄第5259号）を、イオン交換純水1Lあたり、イソプロパノール10mL、酵母エキス1.0g、ペプトン3.0g、硝酸アンモニウム3.0g、燐酸一カリウム0.4g、燐酸二ナトリウム1.5g、硫酸マグネシウム5.0g、硫酸マンガン10mg、硫酸亜鉛10mg、硫酸銅200μg、三酸化モリブデン10μg、炭酸カルシウム5.0g、レーシスチン0.6gおよび[1-<sup>13</sup>C]5-アミノレブリン酸〔式(V)の×により示される位置に<sup>13</sup>Cを有する化合物〕0.1gを含有する殺菌された培地200mLを収容した500mLの三角フラスコに接種し、30℃で1週間振とう培養を行なった。このときの培養液に蓄積した位置選択的に<sup>13</sup>Cで標識されたコプロポルフィリンIII〔式(IV)の×により示される位置に<sup>13</sup>Cを有する化合物；IV×として示す〕の濃度は105mg/Lであり、位置選択的に<sup>13</sup>Cで標識されたウロポルフィリンIII〔式(II)の×で示される位置に<sup>13</sup>Cを有する化合物；II×として示す〕の濃度は318mg/Lであった。

【0035】培養液1Lを遠心分離（10,000Gで10分）し上澄みを回収した。上澄みにイオン交換樹脂（DEAE-Sephadex A25）を2g加えてポルフィリンを吸着させた。これを濾過しイオン交換樹脂を回収して凍結乾燥した。これを氷浴中のメタノール95mLに漬けて濃硫酸を5mL加え、約12時間暗所に保存しポルフィリン類のメチル化を行なった。これを濾過し、濾液中にポルフィリンメチルエステルを確認し、氷浴中アンモニア水を加えてpHを7.0に調整した。これを分液漏斗に移し、塩化メチレン100mLを加えて有機層を分離した。

【0036】この分液漏斗を用いる抽出を3回繰返して行なった。次に有機層を無水マグネシウムで乾燥させて塩化メチレンを減圧留去した。抽出物をシリカゲル（メッシュ300）を用いるカラムクロマトにより精製し、クロロホルムとメタノールを用いて再結晶法により位置選択的に<sup>13</sup>Cで標識されたウロポルフィリンIII（II\*）オクタメチルエステルの結晶を303mg得た。

【0037】この際に得られた位置選択的に<sup>13</sup>Cで標識されたウロポルフィリンIII（II×）オクタメチルエステルの<sup>13</sup>C-NMRの分析結果を図2に示した。またFAB-MASSのスペクトルを図3に示した。一方、<sup>13</sup>Cで標識しない5-アミノレブリン酸を用いて合成されたウロポルフィリンIIIオクタメチルエステルの<sup>13</sup>C-NMRの分析結果を図1に示す。この結果、<sup>13</sup>CがウロポルフィリンIII分子の所定部位に導入されていることが

確認された。

【0038】他方、前記シリカゲルを用いるカラムクロマトグラフィーの段階で、位置選択的に<sup>13</sup>Cで標識されたコプロポルフィリンIII (IV\*) テトラメチルエステルを単離し、前記ウロポルフィリンIII (II×) と同様に、コプロポルフィリンIII (IV×) テトラメチルエステル102mgを得た。また前記と同様にして<sup>13</sup>Cがコプロポルフィリン分子中の所定部位に導入されていることが確認された。

#### 【0039】実施例2

〔1-<sup>13</sup>C〕5-アミノレブリン酸の代りに〔2-<sup>13</sup>C〕5-アミノレブリン酸〔式(V)の\*により示される位置に<sup>13</sup>Cを有する化合物〕を使う他は実施例1と全く同じようにして培養及び精製を行なった。その結果、位置選択的に<sup>13</sup>Cで標識されたウロポルフィリンII I オクタメチルエステルを304mg得た。位置選択的に<sup>13</sup>Cで標識されたウロポルフィリンIII〔式(II)の\*により示される位置に<sup>13</sup>Cを有する化合物；II\*として示す〕オクタメチルエステルの<sup>13</sup>C-NMRの分析結果を図4に示す。

【0040】また、実施例1と同様にして、位置選択的に<sup>13</sup>Cで標識されたコプロポルフィリンIII〔式(IV)により示される\*の位置に<sup>13</sup>Cを有する化合物；IV\*〕のテトラメチルエステル109mgを得た。化合物VI\*テトラメチルエステルの<sup>13</sup>C-NMRスペクトルを図5に示す。

#### 【0041】実施例3

〔1-<sup>13</sup>C〕5-アミノレブリン酸の代りに〔3-<sup>13</sup>C〕5-アミノレブリン酸〔式(V)の▲で示される位置に<sup>13</sup>Cを有する化合物〕を使う他は実施例1と全く同様に培養及び精製を行なった。その結果、位置選択的に<sup>13</sup>Cで標識されたウロポルフィリンIII〔式(II)の▲で示される位置に<sup>13</sup>Cを有する化合物；II▲で示す〕のオクタメチルエステルを309mg得た。位置選択的に<sup>13</sup>Cで標識されたウロポルフィリンIII (II▲) オクタメチルエステルの<sup>13</sup>C-NMRの分析結果を図6に示す。

【0042】また、実施例1と同様にして、位置選択的に<sup>13</sup>Cで標識されたコプロポルフィリンIII〔式(IV)の▲で示される位置に<sup>13</sup>Cを有する化合物；IV▲〕のテトラメチルエステル107mgを得た。

#### 【0043】実施例4

〔1-<sup>13</sup>C〕5-アミノレブリン酸の代りに〔4-<sup>13</sup>C〕5-アミノレブリン酸〔式(V)の■で示される位置に<sup>13</sup>Cを有する化合物〕を使う他は実施例1と全く同様に培養及び精製を行なった。その結果、位置選択的に<sup>13</sup>Cで標識されたウロポルフィリンIII〔式(II)の■で示される位置に<sup>13</sup>Cを有する化合物；II■で示す〕

\*のオクタメチルエステルを315mg得た。位置選択的に<sup>13</sup>Cで標識されたウロポルフィリンIII (II■) オクタメチルエステルの<sup>13</sup>C-NMRの分析結果を図7に示した。

【0044】また、実施例1と同様にして、位置選択的に<sup>13</sup>Cで標識されたコプロポルフィリンIII〔式(IV)の■の位置に<sup>13</sup>Cを有する化合物；IV■により示す〕のテトラメチルエステル108mgを得た。

#### 【0045】実施例5

10 〔1-<sup>13</sup>C〕5-アミノレブリン酸の代りに〔5-<sup>13</sup>C〕5-アミノレブリン酸〔式(V)の●の位置に<sup>13</sup>Cを有する化合物〕を使う他は実施例1と全く同様に培養及び精製を行なった。その結果、位置選択的に<sup>13</sup>Cで標識されたウロポルフィリンIII〔式(II)の●の位置に<sup>13</sup>Cを有する化合物；II●で示す〕のオクタメチルエステルを308mg得た。位置選択的に<sup>13</sup>Cで標識されたウロポルフィリンIII (II●) オクタメチルエステルの<sup>13</sup>C-NMRの分析結果を図8に示した。

20 【0046】実施例1と同様にして、位置選択的に<sup>13</sup>Cで標識されたコプロポルフィリンIII〔式(IV)の●の位置に<sup>13</sup>Cを有する化合物；IV●で示す〕のテトラメチルエステル104mgを得た。

#### 【図面の簡単な説明】

【図1】図1は標識されていないウロポルフィリンIII オクタメチルエステルの<sup>13</sup>C-NMRスペクトルを示す。

【図2】図2は標識されたウロポルフィリンIII (II×) オクタメチルエステルの<sup>13</sup>C-NMRスペクトルを示す。

30 【図3】図3は標識されたウロポルフィリンIII (II×) オクタメチルエステルのFAB-MASSスペクトルを示す。

【図4】図4は標識されたウロポルフィリンIII (II\*) オクタメチルエステルの<sup>13</sup>C-NMRスペクトルを示す。

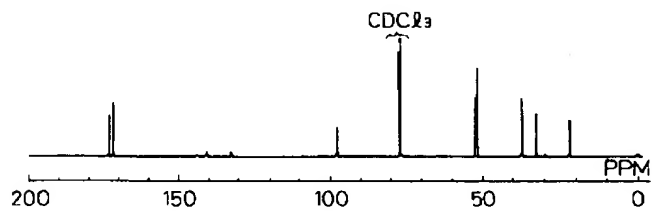
【図5】図5は標識されたコプロポルフィリンIII (IV\*) テトラメチルエステルの<sup>13</sup>C-NMRスペクトルを示す。

40 【図6】図6は標識されたウロポルフィリンIII (II▲) オクタメチルエステルの<sup>13</sup>C-NMRスペクトルを示す。

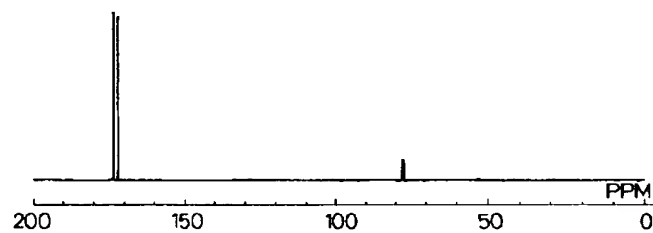
【図7】図7は標識されたウロポルフィリンIII (II■) オクタメチルエステルの<sup>13</sup>C-NMRスペクトルを示す。

【図8】図8は標識されたウロポルフィリンIII (II●) オクタメチルエステルの<sup>13</sup>C-NMRスペクトルを示す。

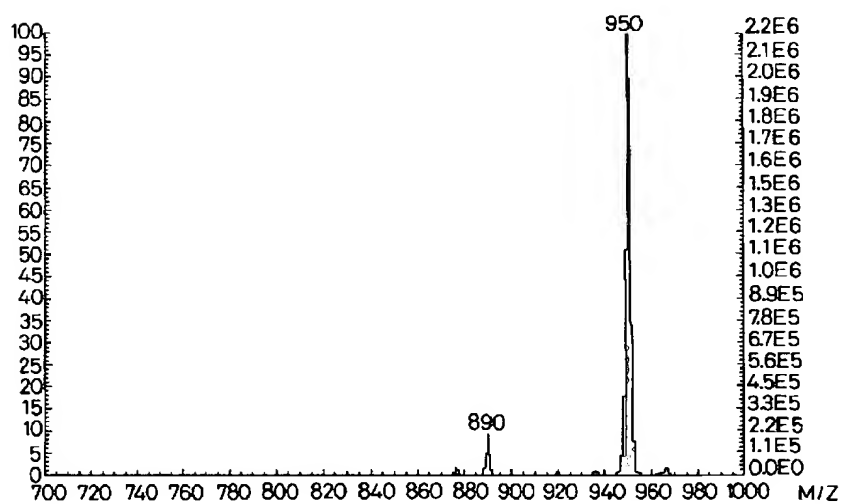
【図1】



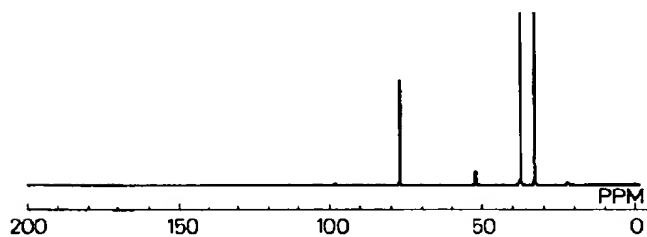
【図2】



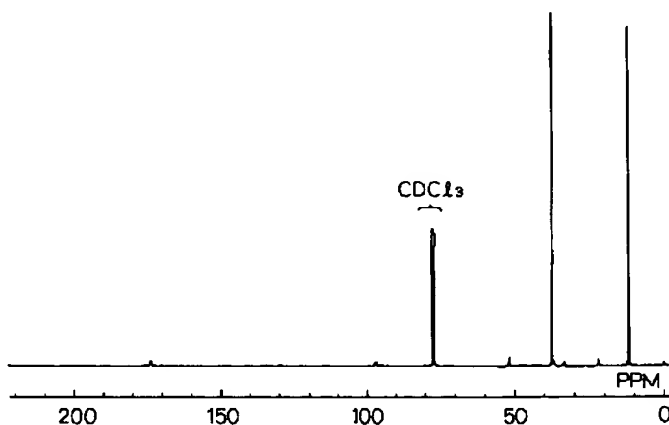
【図3】



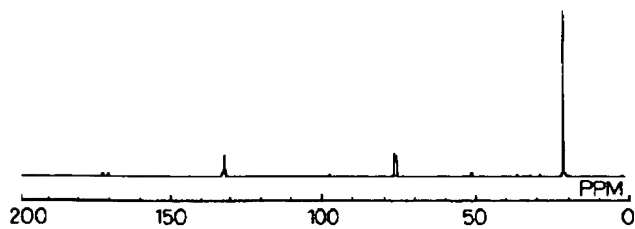
【図4】



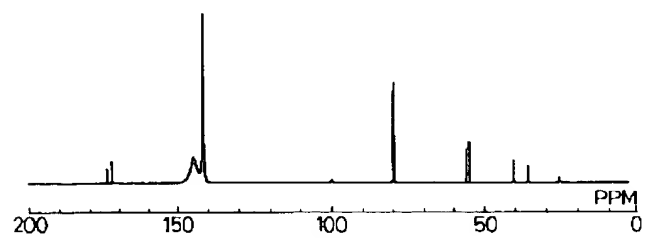
【図5】



【図6】



【図7】



【図8】

